

STANDARDISASI PARAMETER SPESIFIK DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER KOLON (WiDr) DARI EKSTRAK ETANOL LAMUN (*Enhalus acoroides*)

Willya Anggri Paputungan¹⁾, Henki Rotinsulu¹⁾, Paulina V.Y YamLean¹⁾

¹⁾Program studi farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*Cancer is a health problem since it is difficult to cure and causes death for the patient. In cancer occurs uncontrolled cell proliferation and loss of ability to activate apoptosis program so that cancer cells become immortal. The purpose of this study was to obtain data on standardization of specific parameters and anticancer activity test against colon cancer cells (WiDr) from ethanol extract of seagrass *Enhalus acoroides*. Seagrass that has been taken from the habitat was then extracted by maceration method using 96% ethanol for 24 hours then repeated 3 times for 24 hours. Standardization of specific parameter data includes plant identity, organoleptic test, soluble compound in certain solvents, chemical content test and determination of flavanoid level. The anticancer activity test was using MTT assay method and continued with live cell percentage calculation then probit analyze and linear regression. Result of calculation of probit analysis got IC_{50} value from ethanol extract of seagrass against WiDr cancer cell equal to 2969.0 $\mu\text{g/mL}$ and IC_{50} value of doxorubicin as positive control was equal to 9.215 $\mu\text{g/mL}$. The result of linear regression calculation obtained that IC_{50} value of ethanol extract of seagrass was 2067 $\mu\text{g/mL}$ and IC_{50} doxorubicin value is 121.54 $\mu\text{g/mL}$. Result of this study concluded that according to the National Cancer Institute, the ethanol extract with series of concentrations ranging from 500 $\mu\text{g/mL}$ did not have anticancer activity against colon cancer cells (WiDr), compared to the positive control doxorubicin.*

Keywords: Standardization, seagrass (*Enhalus acoroides*), colon cancer cells (WiDr), MTT assay, anticancer

ABSTRAK

Kanker merupakan masalah dibidang kesehatan karena sukar disembuhkan dan menyebabkan kematian bagi penderita. Pada kanker terjadi proliferasi sel yang tidak terkendali dan hilangnya kemampuan mengaktifkan program apoptosis sehingga sel kanker menjadi immortal. Tujuan penelitian ini yaitu mendapatkan data standardisasi parameter spesifik dan uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon (WiDr) dari ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides*). Lamun yang telah diambil dari habitatnya kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 24 jam kemudian di remaserasi sebanyak 3 kali selama 24 jam. Data standardisasi parameter spesifik mencakup identitas tanaman, uji organoleptik, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, uji kandungan kimia dan penetapan kadar flavonoid. Uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT assay dan dilanjutkan dengan perhitungan persentase sel hidup kemudian dilakukan analisis probit dan regresi linear. Hasil perhitungan analisis probit didapatkan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol Lamun terhadap sel WiDr sebesar 2969,0 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} doxorubisin sebagai kontrol positif sebesar 9,215 $\mu\text{g/mL}$. Hasil perhitungan regresi linear diperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol Lamun sebesar 2067,53 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} doxorubisin sebesar 121,54 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa menurut *Nasional Cancer Institute* ekstrak etanol dengan seri konsentrasi dimulai dari 500 $\mu\text{g/mL}$ tidak memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon (WiDr), dibandingkan dengan kontrol positif doxorubisin.

Kata kunci : Standardisasi, Lamun (*Enhalus acoroides*), sel kanker kolon (WiDr), MTT assay, antikanker.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan pertumbuhan sel dan jaringan baru yang tidak terkontrol pada pengaturan kelangsungan hidup yang bersifat infiltratif. Pertumbuhan kanker yang tidak terkontrol tersebut diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitar dan metastase ke bagian tubuh yang lain (Hondermarck, 2003). Kanker kolon merupakan kanker kolorektal dan termasuk salah satu jenis kanker ganas yang tumbuh pada permukaan usus besar (kolon) atau anus (rektum). Kanker kolon ini merupakan kanker kedua terbanyak setelah kanker paru pada laki-laki dan kanker payudara pada wanita dan penyebab kematian karena kanker di negara-negara barat. Di Indonesia kanker kolon juga termasuk 10 besar kanker yang sering terjadi (Tjindarbudi dan Mangunkusumo, 2013).

Metode pengobatan kanker yang banyak digunakan saat ini ialah metode pengangkatan jaringan kanker terlokalisasi (pembedahan) tetapi, pembedahan memiliki keterbatasan karena tidak dapat dilakukan pada sel kanker darah serta pada kanker yang telah bermetastasis. Karena itu pembedahan harus diikuti dengan upaya mematikan sel kanker dengan radiasi, kemoterapi dan imunoterapi. Terapi tersebut memiliki efek samping yang sering ditakuti pasien. Efek samping diantaranya *alopecia* (kerontokan rambut), mual, emesis (muntah), anemia, hepatoksik dan menginduksi kanker di organ lain. Pada dasarnya metode-metode tersebut bertujuan untuk mengangkat jaringan kanker atau mematikan sel kanker, pengaturan siklus sel dan kontrol *checkpoint* yang akan mempengaruhi proliferasi sel, pengaturan

transduksi sinyal faktor pertumbuhan dan penghambatan angiogenesis (Cassidy, 2006).

Obat kemoterapi belum sepenuhnya bisa menanggulangi masalah kanker, sebab obat-obat tersebut bisa membahayakan jaringan tubuh yang masih sehat. Oleh karena itu, perlu dikembangkan obat-obat baru yang berasal dari bahan-bahan alami agar efek samping pengobatan kanker dapat dikurangi. Indonesia merupakan negara yang terkenal akan keanekaragaman hayati di dunia, antara lain berupa tumbuhan tropis dan biota laut, sehingga sangat potensial untuk pengembangan obat baru dan fitofarmaka (Qomariyah, 2003).

Pencarian obat anti-kanker ini menarik banyak perhatian untuk kembali ke alam dengan menggunakan tanaman-tanaman obat yang potensial (Wahyuningsih *et al.*, 2007). Salah satunya tanaman yang hidup di perairan, sebagai tanaman laut Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex Steud) memiliki kandungan antara lain karbohidrat, protein, lemak, fenol hidrokuinon, steroid, triterpenoid dan flavonoid (Ren *et al.*, 2003).

Sejauh ini Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex Steud) hanya diteliti mengenai kandungan fitokimia dan penelitian yang dilakukan Arifudin (2013) tentang Uji Sitotoksik bahan aktif Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex Steud) terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) hasilnya yaitu Lamun memiliki aktivitas sitotoksik. Berdasarkan kajian tersebut, maka akan dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai standardisasi dan uji aktivitas antikanker dari ekstrak etanol Lamun, menggunakan sel kanker kolon (WiDr) untuk mengetahui

apakah ekstrak tersebut memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon (WiDr) dengan uji nilai IC₅₀.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2016 - Mei 2017 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, gelas kimia labu ukur, cawan petri, oven, *hot plate*, *rotatory evaporator*, timbangan analitik, vortex, pipet tetes, *magnetik stirrer*, mikropipet (Pyramid), Spektrofotometri UV-Vis, tabung Evendorf, Conical Tube, Cryotube, Mikroskop Inverted, Hemositometer, yellow tip dan blue tip, Mikro Plate 96, Inkubator CO₂ (Benchmark), *Laminar Air Flow*, Elisa Reader.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah tumbuhan Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex Steud), Kloroform P.A, Etanol 70%, Etanol 96%, HCL, Serbuk Magnesium, Aquabides, Asetat Anhidrida, Asam Sulfat, Reagen Meyer, Reagen Dragendorf, Reagen Wagner, FeCl₃, Reagen Aluminium Klorida, Kuersetin, Penisillin-Streptomisin, *Fetal Bovine Serum* (FBS), Tripsin EDTA, NaHCO₃, Hepes, Amphotericyn B, Media

RPMT, MTT 5mg/mL PBS (50 mg MTT dan 10 mL PBS *Phosphate buffer saline*), Dimethyl Sulfoxide, Sodium Didusil Sulfat 10%, Doxorubisin, Sel kanker WiDr.

Prosedur Penelitian

Persiapan Pembuatan Ekstrak

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex Steud) dari habitatnya, kemudian Lamun dibersihkan dari pasir dan kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air tawar. Setelah bersih Lamun dirajang seperti irisan kecil-kecil. Lamun dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam dan pada 6 jam pertama sekali-kali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring dengan kapas dan kertas saring. Selanjutnya, residu dimaserasi kembali sebanyak 3 kali selama 24 jam hingga filtrat yang dihasilkan warna hijau bening. Filtrat yang diperoleh disatukan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C – 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Rendemen dari ekstrak kemudian dihitung dengan rumus :

% Rendemen

$$= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

Pengujian Parameter Spesifik

Pada Pengujian Standardisasi Spesifik meliputi :

Identitas tanaman yang akan dibuat ekstrak, uji organoleptik ekstrak, senyawa larut dalam air dan etanol, uji kandungan kimia ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides* Rich. Ex. Steud).

Penentuan Kadar Flavonoid

Penentuan kadar flavonoid dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan

reagen aluminium klorida. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 2500 µg/mL dan 5000 µg/mL, ditambahkan dengan 2 mL aluminium klorida 2% yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian divorteks dan diukur absorbansi pada 415 nm. dibuat perhitungan rata-rata 2 kali pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan pembanding baku quercetin (Chang *et al.*, 2002).

Uji Aktivitas Antikanker Pada Sel WiDr **Pembuatan Larutan Uji Sampel Lamun** **(*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*)**

Ditara *cryotube*, selanjutnya ditimbang ekstrak Lamun dalam *cryotube* sebanyak 10 mg, kemudian ditimbang ekstrak uji sejumlah 0,144 gr dan dilarutkan dalam DMSO 144 µl (dicampur hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 100.000 ppm). Disiapkan 7 tabung reaksi untuk diisi media kultur dan bahan uji, setiap tabung diisi 500 µl media kultur terlebih dahulu, pada tabung yang pertama diisi kembali dengan 490 µl media kultur, dipipet 10 µl larutan bahan uji Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) kedalam tabung yang pertama disuspensi, dipipet kembali 500 µl dan dimasukkan dalam tabung yang kedua, seterusnya sampai tabung terakhir, konsentrasi larutan uji yang dibuat yaitu 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, dan 7,8125 µg/mL.

Pembuatan Larutan Uji Kontrol Positif Doxorubisin

Disiapkan 7 tabung reaksi untuk diisi media kultur dan bahan uji, setiap tabung diisi 800 µl media kultur terlebih dahulu, pada tabung yang pertama diisi kembali

dengan 720 µl media kultur, dipipet 80 µl doxorubisin kedalam tabung pertama disuspensi, dipipet kembali 800 µl dan dimasukkan dalam tabung yang kedua, seterusnya sampai tabung terakhir, konsentrasi larutan uji yang dibuat yaitu 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 6,25 µg/mL, 3,125 µg/mL, dan 1,5625 µg/mL.

Perlakuan Terhadap Sel WiDr

Sel diambil dalam inkubator CO₂, dibuang media kulturnya, selanjutnya dipipet larutan uji 100 µl dari konsentrasi rendah dan dimasukkan pada tiap sumuran dan urutan dari bawah, begitupun seterusnya hingga sumuran terakhir dan konsentrasi paling tinggi. Sumuran kontrol sel diisi dengan media kultur sebanyak 100 µl, sedangkan untuk kontrol media dibiarkan tetap kosong, inkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂.

Pemberian MTT Assay

Sel yang telah diisi bahan uji diambil dalam inkubator CO₂, didokumentasi kondisi sel sebelum pemberian MTT dibawah mikroskop inverted. Dibuat reagen MTT dengan cara dicairkan reagen MTT dengan memasukkan conical tube yang berisi reagen MTT di dalam gelas beaker yang diisi air, dipipet 1 mL MTT dimasukkan di dalam conical tube, ditambahkan media kultur RPMI sebanyak 10 mL, dikocok hingga homogen (pekerjaan dilakukan semuanya harus didalam LAF), dibuang media sel, dipipet 100 µl reagen MTT dan dimasukkan pada setiap sumuran, diinkubasi selama 4-6 jam dalam inkubator CO₂, setelah itu dikeluarkan dari incubator didokumentasikan kondisi sel setelah

pemberian reagen MTT di bawah mikroskop inverted. Selanjutnya dipipet 100 µl stopper SDS 10% dan dimasukkan di dalam tiap-tiap sumuran, dibungkus dengan kertas aluminium foil dan diberi penanda, dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya dibaca nilai absorbansi dengan menggunakan Elisa Reader.

Analisa Data

Dari hasil uji sitotoksitas yang berupa respon serapan dikonversikan ke dalam persen kehidupan dengan rumus:
% kehidupan

$$= \frac{\text{absorbansi sumuran uji} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisa probit untuk menentukan IC₅₀ ekstrak Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*). Menurut NCI (*National Cancer Institute*) suatu ekstrak dikatakan aktif apabila memiliki aktivitas sitotoksitas dengan nilai IC₅₀ < 30 µg/mL, sedangkan moderat aktif apabila memiliki

nilai IC ≥ 30 µg/mL dan IC₅₀ < 100 µg/mL dan dikatakan tidak aktif apabila nilai IC₅₀ > 100 µg/mL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*).

Penelitian ini menggunakan senyawa hasil maserasi dari ekstrak etanol 96% tanaman Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*). Senyawa uji ini diperoleh dengan menyari 250 g tanaman Lamun yang diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96% 750 mL, perbandingan 1 : 3 selama 24 jam dan pada 6 jam pertama sekali-kali dilakukan pengadukan, hasil maserasi disaring dengan kapas dan kertas saring. Selanjutnya, residu diremaserasi sebanyak 3 kali selama 24 jam hingga filtrate yang dihasilkan berwarna hijau bening, filtrat yang diperoleh disatukan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* lalu diuapkan pada suhu 40° C di oven sampai diperoleh ekstrak kental 8,4 gr.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*).

	Berat ekstrak yang diperoleh (g)	Berat bahan yang diekstrak (g)	Rendamen (%)
Maserasi	250 gr	8,4 g	3,36 %

Hasil Pengujian Standardisasi Parameter Spesifik

Pengujian kandungan kimia ekstrak Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) memberikan hasil yang positif meliputi uji Alkaloid, Flavanoid, Saponin, Triterpenoid, Steroid, Tanin, Fenol.

Hasil Penetapan Kadar Flavanoid

Penetapan kadar flavonoid dinyatakan sebagai kuersetin mg/kg ekstrak. Uji kandungan total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) dengan konsentrasi 2500 µg/mL dan 5000 µg/mL dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 2. Hasil Pengujian Kadar Flavanoid

Konsentrasi	Kadar Flavanoid
-------------	-----------------

2500 µg/mL	8,53 ± 0,45 mg/kg
5000 µg/mL	14,3 ± 4,02 mg/kg

menghentikan reaksi maka diberikan stopper Sodium Didusil Sulfat 10% selama semalam yang kemudian diukur absorbansinya.

Hasil Pengujian Aktivitas Antikanker Pada Sel WiDr

Setelah kultur sel WiDr diberikan perlakuan dengan pemberian MTT dan stopper dengan tujuan untuk mereaksikan MTT kedalam sel hidup sehingga terjadi intensitas warna ungu yang proporsional karena terbentuk kristal formasan, jika intensitas warna ungu semakin besar maka jumlah sel hidup semakin banyak dan untuk

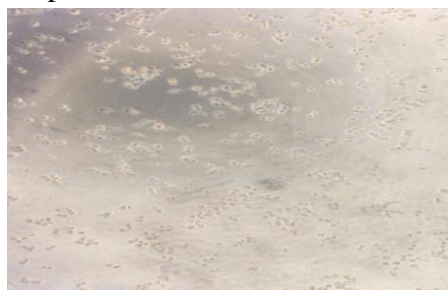
Nilai absorbansi sumuran diukur dengan menggunakan *Elisa Reader* sehingga diperoleh data nilai absorbansi dalam masing-masing sumuran. Dari data tersebut kemudian dihitung nilai rerata absorbansi tiap sumuran. Presentase penghambatan pertumbuhan sel WiDr setelah pemberian ekstrak etanol Lamun dan kontrol positif doxorubisin diperoleh dengan melakukan perhitungan sesuai rumus.

Tabel 3. Data Hasil Uji MTT Assay Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) Terhadap Sel WiDr.

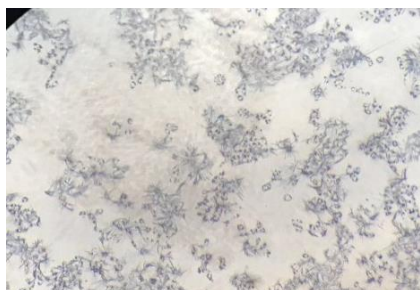
Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Rata-rata absorbansi	% Sel Hidup
	1	2	3		
500	0,424	0,421	0,412	0,419	59,616
250	0,472	0,495	0,452	0,473	69,198
125	0,493	0,516	0,514	0,507	75,230
62,5	0,516	0,509	0,483	0,502	74,343
31,25	0,524	0,517	0,531	0,524	78,246
Kontrol Sel	0,751	0,532	0,657	0,646	
Kontrol Media	0,097	0,071	0,082	0,083	

Hasil uji sitotoksitas Ekstrak Etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) terhadap sel kanker kolon WiDr dengan

metode MTT assay dapat dilihat pada gambar.



Kondisi Sel Awal



Kondisi Sel Setelah MTT

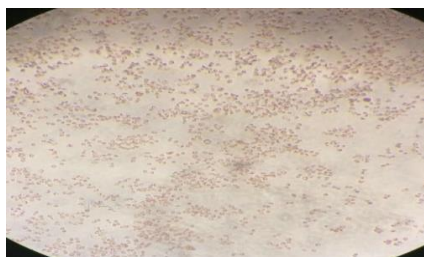
Gambar 1. Kondisi Sel WiDr Sebelum Dan Sesudah Pemberian MTT Pada Konsentrasi 500 µg/mL Dilihat Dibawah Mikroskop Inverted Dengan Perbesaran 100 Kali.

Tabel 4. Data Hasil Uji MTT assay Kontrol Positif Doxorubisin

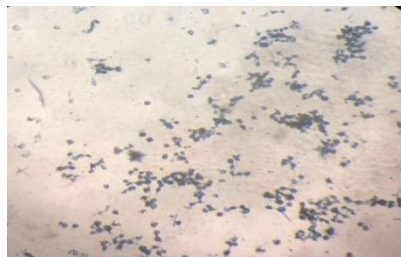
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata absorbansi	% Sel Hidup
	1	2	3		
100	0,393	0,127	0,107	0,209	22,356
50	0,271	0,141	0,285	0,232	26,437
25	0,573	0,107	0,105	0,261	31,582
3,125	0,416	0,277	0,190	0,294	37,504
1.5625	0,592	0,833	-	0,712	111,603
Kontrol Sel	0,751	0,532	0,657	0,646	
Kontrol Media	0,097	0,071	0,082	0,083	

Hasil uji sitotoksik kontrol positif
Doxorubisin terhadap sel kanker kolon

WiDr dengan metode MTT assay dapat
dilihat pada gambar



Kondisi Sel Awal



Kondisi Sel Setelah MTT

Gambar 2. Kondisi Sel WiDr Sebelum Dan Sesudah Pemberian MTT Pada Konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ Dilihat Di Bawah Mikroskop Dengan Perbesaran 100 Kali.

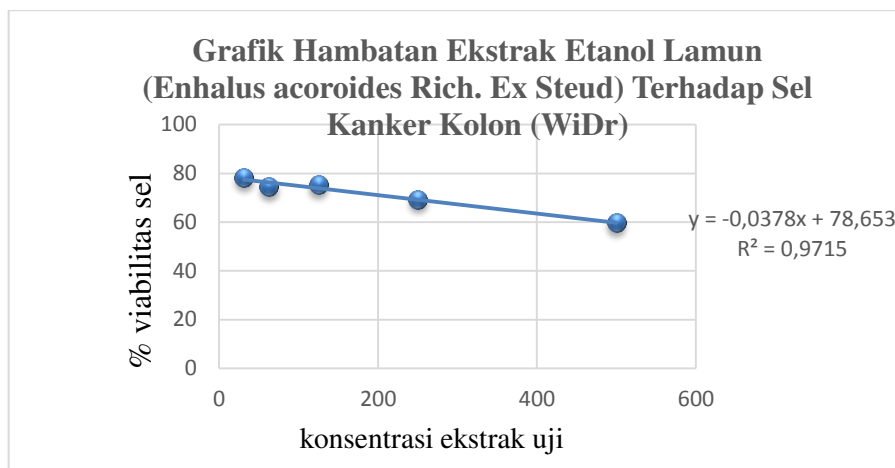
Analisis Data Untuk Mengetahui Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan analisis probit dan regresi linear, analisis probit ini biasa dipakai pada pengujian biologi untuk mengetahui respon subjek yang diteliti oleh adanya stimuli, misalnya obat-obatan. Dalam penelitian ini stimuli diaplikasikan pada subjek dalam seri konsentrasi dan respon yang dihitung berupa penghambatan. Dari hasil pembacaan absorbansi dengan menggunakan *Elisa reader* pada panjang gelombang 595 nm dan perhitungan persentase sel hidup, kemudian dilakukan analisis probit dengan

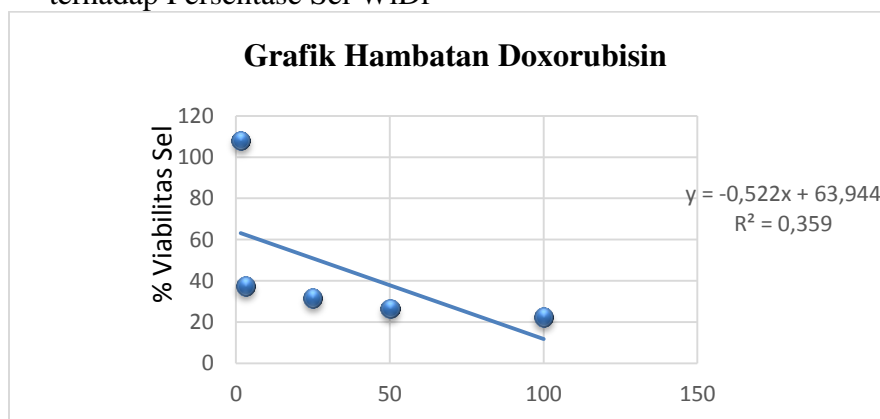
menggunakan SPSS (*Statistik program for social science*) 22. Hasil perhitungan didapatkan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) terhadap sel WiDr sebesar 2969,0 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} kontrol positif doxorubisin sebesar 9,215 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan dengan regresi linear dengan menggunakan Microsoft excel dilakukan pada 5 titik konsentrasi sampel ekstrak Lamun yaitu 31,25 $\mu\text{g/mL}$, 62,5 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ dan didapatkan persamaan linear $y = -0,0378 x + 78.653$ dengan $R^2 = 0,9715$. Berdasarkan persamaan linear diperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol

Lamun yaitu 2067,53 µg/mL, selanjutnya perhitungan regresi linear kontrol positif doxorubisin dilakukan pada 5 titik konsentrasi yaitu 1,5625 µg/mL, 3,125 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL dan didapatkan persamaan linear $y =$

$-0,522x + 63,944$ dengan $R^2 = 0,359$. Berdasarkan persamaan linear diperoleh nilai IC_{50} kontrol positif doxorubisin yaitu 121,54 µg/mL.



Gambar 3. Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Etanol Lamun *Enhalus acoroides* terhadap Persentase Sel WiDr



Gambar 4. Hubungan Antara Konsentrasi Doxorubisin terhadap Persentase Sel WiDr

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan bahwa: Ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) telah terstandarisasi parameter spesifik yang meliputi data identitas tanaman yang akan

dibuat ekstrak, uji organoleptik ekstrak, senyawa yang larut dalam air dan etanol, uji kandungan kimia ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) dan penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*). Nilai IC_{50} Ekstrak etanol Lamun (*Enhalus*

acoroides Rich. Ex Steud) berdasarkan analisis probit menggunakan SPSS yaitu 2.969,0 µg/mL, berdasarkan regresi linear yaitu 2.067,53 µg/mL jauh lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif doxorubisin berdasarkan analisis probit yaitu 9,215 µg/mL, berdasarkan regresi linear yaitu 121,54 µg/mL.

SARAN

Perlu adanya penelitian untuk aktivitas antikanker fraksi atau isolat dari Lamun (*Enhalus acoroides Rich. Ex Steud*) untuk mengetahui mekanisme dari senyawa murni dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Cassidy, Jim., P, Johnston., E. and Van Custem. 2006. *Colorectal Cancer*. Informa Healthcare USA. Inc, New York.
- Chang, C.C., M. H. Yang., H. M. Wen and J. C. Chern. 2002. Estimation Of Total Flavonoid Content In Propolis By Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal Of Food And Drug Analysis*. Vol VI. No.1:37-45.
- Chen, T.R., Drabkowski, D., Hay, R.J., Macy, M., and Peterson W. Jr. 1987. WiDr Is A Derivative Of Another Colon Adenocarcinoma Cell Line, HT-29. *Cancer Genet Cytogenet.*, 27(1): 125-34.
- Desen, Wan. 2011. *Buku Ajar Onkologi Klinis Edisi 2*. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Flatmark, K., Maeldandsmo, G.M., Martinsen, M., Rassmusen, H., and Fodstad, O. 2004. Twelve Colorectal Cancer Cell Lines Exhibit Highly Variable Growth and Metastatic Capacities in an Orthotopic Model in Nude Mice. *European Journal Of Cancer*, 40 : 1593 – 1598.
- Harborne, J.B. 1987. (Terjemahan: Kosasih Padmawinata Dan Iwang Sudiro). *Phytochemical Methods Edisi ke-2. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Haryoto, Muhtadi., Peni Indrayudha., Azizah, T., dan Suhendi, A. 2013. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra Ramiflora Linn*) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDr. *Jurnal Penelitian Saintek*. 18(2) : 21-22.
- Hondermarck, H. 2003. Breast Cancer. *Molecular & Cellular Proteomics 2.5. The American Society For Biochemistry And Molecular Biology, Inc., pp.* 281-291.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry J.F., Lync, P.B., and Buckley, D.J. 2001. Evaluation Of The Antioxidant Potential Of Natural Food/Plant Extracts As Compared With Synthetic Antioxidants And Vitamin E In Raw And Cooked Pork Patties., *Journal Of Meat Science*. 57 : 45-52.
- Palloza, P., Serini, S., Maggiano, N., Gluseppe, T., Navarra, P and

- Ranelletti, F.O. 2005. Carotene Downregulates The Steady-state and Heregulin-a-induced COX-2 Pathways in Colon Cancer Cells, *Journal*. 135 : 129-136.
- Qomariyah, N. 2003. Herbal Medicine : Pentingnya Mengenai dan Memahaminya : *Mutiara Medika Jurnal Kedokteran Kesehatan* 1 (2) : 38-41.
- Tjindarbudi, D., Mangunkusumo, R., 2013. Cancer In Indonesia, Present and Future. *Jpn J Clin Oncol* 32 (Oncol 1) S17-S21.
- Wahyuningsih., Syarif, R.A., Duana, Y., Vindawati, Z.S., Rahmawati R., 2007. Cytotoxic Effect Of n-Hexane Insoluble Fraction Obtain From Kloroform Extract Of Kembang Bulan Leaves (*Tithonia Diversifolia* (Hemsley) A. Gray) on Hela Cells and Mechanism Detection by Hoechst 33342. *Berkala Ilmu Kedokteran* 39 (3) : 109-14.
- Zheng Z., Huang W., Yang Y, Li Z., Cai J, Su H., 2000. Detection Of Antitumor and Antimicrobial Activities In Marine Organism Associated Actinomycetes Isolated from The Taiwan Strait, China. *Journal Microbial Lett.* 188 : 87-91.